Thrombo-Wellcotest*

REF R30852601 **FR**

1. DOMAINE D'APPLICATION

Le Thrombo-Wellcotest* est destiné au dosage semi-quantitatif rapide des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène (PDF) dans les échantillons de sérum et d'urine humains. Le Thrombo-Wellcotest a été classifié comme modérément complexe dans le cadre de la loi américaine « Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA88) ».

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Ferri et Ferreira[1] ont été les premiers à mettre en évidence la présence de produits de dégradation du fibrinogène (PDF) dans des sérums pathologiques ; par la suite, la mise au point d'une méthode de dosage immunologique par inhibition de l'hémagglutination[2,3] et l'amélioration de sa sensibilité ont rendu possible la détection des PDF chez 95% des individus normaux. La concentration normale de PDF est, au repos, d'environ 5 µg/ml[4] ; elle augmente à l'effort[5] et sous l'effet de l'angoisse et d'autres types de stress,[6] mais ces variations sont faibles par rapport aux concentrations fortement élevées que l'on observe lors des épisodes thrombotiques de toute nature, parmi lesquels l'infarctus du myocarde, la thrombose post-opératoire des veines profondes[7] et certains troubles gravidiques (grossesse). Une augmentation de la concentration de PDF est un signe diagnostique précoce de dépôt accru de fibrine ou de thrombose déclarée et des concentrations exceptionnellement élevées ont été constatées dans l'embolie pulmonaire.

Le Thrombo-Wellcotest est particulièrement utile comme méthode de dépistage dans le diagnostic de la coagulation intravasculaire disséminée.[8]

La valeur du dosage des PDF dans l'urine a été étudiée. Chez les individus normaux, les PDF ne sont pas décelables dans l'urine, mais des concentrations allant jusqu'à 100 µg/ml ont été enregistrées dans certains types de néphropathies[9] ; ce test a une valeur prédictive prouvée dans le diagnostic différentiel chez les patients atteints de glomérulonéphrite[10] et dans le suivi des patients ayant subi une transplantation rénale.[11,12]

Le Thrombo-Wellcotest est un test simple et rapide qui permet l'examen de routine de tous les malades chez qui il existe un risque particulier. Le test est une méthode d'agglutination sur lame : une goutte d'échantillon et une goutte de suspension latex sont mélangées en agitant doucement pendant 2 minutes. Une agglutination à la fin de cette période indique la présence d'au moins 2 µg/ml de PDF dans l'échantillon testé. En analysant les échantillons à 2 dilutions différentes, on peut obtenir une valeur approximative de la concentration de PDF.

Le Thrombo-Wellcotest permet de déceler la présence de tous les principaux produits de dégradation de la fibrine ou du fibrinogène et les résultats obtenus par ce test au latex montrent une bonne corrélation avec ceux obtenus par la méthode de dosage immunologique par inhibition de l'hémagglutination.[13,14,15]

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Des antisérums spécifiques de préparations hautement purifiées des fragments D et E du fibrinogène humain sont produits. Après absorption en phase solide pour éliminer les anticorps dirigés contre toutes les autres protéines sériques, les globulines spécifiques sont extraites, puis fixées par adsorption sur des particules de latex en suspension dans du tampon salin glycine.

La sensibilité du réactif au latex est ajustée de telle sorte qu'en présence de concentrations de PDF supérieures ou égales à 2 µg/ml (en équivalent de fibrinogène), les particules de latex s'agglomèrent, donnant une agglutination macroscopique.

4. REACTIFS

COMPOSITION DU COFFRET

Thrombo-Wellcotest		20 tests (HA13/R30852601)
1.	Suspension au latex	1 compte-gouttes (bouchon blanc)
2.	Sérum témoin positif	1 compte-gouttes (bouchon rouge)
3.	Sérum témoin négatif	1 compte-gouttes (bouchon bleu)
4.	Tubes de prélèvement d'échantillon	20
5.	Tampon salin glycine	2 compte-gouttes (bouchons blancs)
6.	Lames test	1
7.	Pipettes à usage unique	25
8.	Bâtonnets d'homogénéisation à usage unique	1 paquet
9.	Poire	1
10.	Mode d'emploi	1

DESCRIPTION, PREPARATION POUR UTILISATION ET CONDITIONS DE CONSERVATION RECOMMANDEES

Voir également **Précautions et restrictions d'emploi**.

Pour garder toute leur réactivité au moins jusqu'à la date de péremption imprimée sur les étiquettes des flacons, les réactifs du kit Thrombo-Wellcotest doivent être conservés entre 2 et 8°C. Les tubes de prélèvement et le tampon salin glycine peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 25°C.

Aucune purification ou traitement complémentaire des réactifs n'est nécessaire avant l'emploi.

LATEX **Suspension latex :**

3 ml d'une suspension à 0,75% de particules de latex polystyrène recouvertes de globuline de mouton anti-PDF dans un tampon salin glycine contenant 0,1% d'azide de sodium et 0,4% de Micr-o-protect®.

CONTROL + ⚠ **Sérum témoin positif :**

1 ml de sérum humain (non réactif pour l'AgHBs et les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC), dilué dans un tampon salin glycine contenant 0,1% d'azide de sodium.

CONTROL − ⚠ **Sérum témoin négatif :**

1 ml de sérum humain (non réactif pour l'AgHBs et les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC), dilué dans un tampon salin glycine contenant 0,1% d'azide de sodium.

Tubes de prélèvement :

20 tubes en verre contenant de l'inhibiteur trypsine de soja (environ 3 600 unités NF/tube) et du venin de *Bothrops atrox* (> 10 µg/tube) destinés à recueillir 2 ml de sang total ou d'urine.

GLYCINE SALINE **Tampon salin glycine :**

2 flacons de 25 ml chacun de tampon à pH = 8,2 contenant 0,1% d'azide de sodium.

5. PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

IVD

Exclusivement destiné au diagnostic *in vitro*.

Exclusivement réservé à l'usage professionnel.

Pour des informations sur les composants potentiellement dangereux, veuillez vous référer aux fiches de sécurité fournies par le fabricant et aux étiquettes des produits.

INFORMATIONS DE SECURITE

1. ATTENTION : Ce kit contient des composants d'origine humaine. Aucune méthode d'analyse actuellement connue ne peut garantir de façon absolue que les produits d'origine humaine ne transmettront pas d'infections. Par conséquent, tous les produits d'origine humaine doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Le sérum humain utilisé pour la fabrication des témoins a été trouvé négatif pour l'AgHBs et les anticorps anti-VIH et anti-VHC. Il est recommandé de manipuler ces réactifs et les échantillons humains avec les précautions appropriées en respectant les bonnes pratiques de laboratoire.
2. La suspension latex, les sérums témoin positif et négatif et le tampon salin glycine contiennent 0,1% d'azide de sodium, lequel est classifié comme nocif (Xn) selon les directives de la Communauté Economique Européenne (CEE). La nature des risques particuliers (R) attribués aux préparations dangeruses est la suivante.

   Xn **R22** Nocif en cas d'ingestion

   L'azide peut réagir avec le cuivre ou le plomb des canalisations pour former des sels explosifs. Bien que les quantités utilisées soient faibles, il est conseillé de rincer abondamment à l'eau les canalisations dans lesquelles ont été déversés des réactifs contenant de l'azide.
3. Les tubes de prélèvement d'échantillon contiennent de faibles concentrations de substances nocives. Ne pas respirer les poussières et éviter tout contact avec les yeux.
4. L'équipement non jetable doit être stérilisé après l'emploi en utilisant une procédure appropriée ; la méthode recommandée est la stérilisation par autoclave pendant au moins 15 minutes à 121°C. Le matériel à usage unique doit être stérilisé par autoclave ou incinéré. Les éclaboussures de matériaux potentiellement infectieux doivent être éliminées immédiatement à l'aide d'un papier absorbant et les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant anti-bactérien standard ou de l'alcool à 70%. NE PAS utiliser de chlorure de soude. Le matériel utilisé pour le nettoyage des éclaboussures, y compris les gants, doit être éliminé comme s'il s'agissait de déchets biologiquement dangereux.
5. Pour manipuler les échantillons et effectuer le test, porter une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection. Une fois le test terminé, se laver soigneusement les mains.

PRECAUTIONS D'ANALYSE

1. Tous les tests doivent être effectués à une température ambiante optimale (20 à 25°C) et tous les réactifs doivent être amenés à cette température optimale avant l'emploi.
2. La suspension latex doit être homogénéisée soigneusement en agitant vigoureusement le flacon 3 ou 4 fois juste avant d'effectuer le test. Les réactifs au latex présentant des signes d'agrégation lorsqu'ils sont distribués pour la première fois peuvent avoir été congelés et ne doivent pas être utilisés. Si le latex ne réagit pas correctement avec les sérums témoins positif et négatif au cours du test, conformément à la description, cela indique la détérioration d'un ou plusieurs réactifs.
3. Lors de l'utilisation de flacons compte-gouttes, il est important de les garder en position verticale et de vérifier que la goutte se forme au niveau de la pointe de l'embout. Si l'embout du compte-gouttes est mouillé, un volume incorrect se forme autour de l'extrémité et non pas à la pointe ; dans ce cas, sécher l'embout avant de continuer.
4. Les sérums contrôles sont fournis dilués, prêts à l'emploi; aucune préparation complémentaire n'est nécessaire.
5. La lame test doit être nettoyée conformément aux procédures de laboratoires applicables.

PRELEVEMENT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Echantillons de sérum :
Prélever du sang à l'aide d'une seringue sèche par ponction veineuse, **sans pose de garrot prolongée**, chez le sujet au repos. Introduire 2 ml de sang à travers le bouchon de l'un des tubes de prélèvement fournis avec le kit ou enlever le bouchon et verser 2 ml de sang dans le tube. De plus petits volumes de sang (0,5 ml minimum) peuvent être prélevés chez les enfants et recueillis dans les tubes de prélèvement.

Mélanger immédiatement en retournant doucement le tube à plusieurs reprises ; un caillot de sang solide se formera en quelques secondes. Ne pas agiter le tube pendant que le sang coagule. Les tubes de prélèvement sont compatibles avec le système Vacutainer® et peuvent être utilisés, si on le désire, avec les aiguilles spéciales à la place de la seringue.

Veiller à indiquer clairement sur l'étiquette du tube l'identification correcte du patient.

Décoller le caillot pour lui permettre de se rétracter et laisser le tube à température ambiante (20 à 25°C) ou à 37°C pendant 30 à 60 minutes jusqu'à ce que quelques gouttes de sérum puissent être aspirées à l'aide d'une pipette Pasteur. Si on le désire, le processus de séparation du sérum peut être accéléré par centrifugation. Le sérum séparé doit ensuite être clarifié par centrifugation, si nécessaire.

Les tubes de prélèvement contiennent du venin de Bothrops atrox qui permet d'obtenir une coagulation rapide et complète, même en présence d'héparine et d'autres antithrombines.[16,17]

Le sérum clarifié peut être conservé entre 2 et 8°C jusqu'à 1 semaine ou entre -15 et -25°C pour de plus longues périodes avant de procéder au test.

REMARQUE : Une légère hémolyse de l'échantillon peut être observée. Celle-ci n'affectera pas la capacité du Thrombo-Wellcotest à détecter les PDF dans l'échantillon et n'entraînera pas de résultats faussement positifs.

Le sang recueilli sans inhibiteur d'enzyme n'est pas approprié pour la recherche de PDF.

Echantillons d'urine :

Introduire 2 ml d'urine dans un tube de prélèvement PDF (fourni avec le kit) étiqueté au nom du patient. Mélanger le contenu soigneusement en retournant à plusieurs reprises le tube bouché. Les tubes de prélèvement contiennent du venin de *Bothrops atrox* et un inhibiteur d'enzyme. Si on soupçonne la présence de sang dans l'urine suite à une lésion rénale, laisser reposer le tube pendant au moins 30 minutes à température ambiante (20 à 25°C) pour que le matériau coagulable puisse être totalement éliminé. La présence de l'inhibiteur dans le tube de prélèvement empêche toute dégradation ultérieure pendant cette période d'incubation. L'urine contaminée par du sang, notamment du sang menstruel, peut contenir des PDF sans que cela soit lié à l'état des reins ; de tels échantillons ne sont pas appropriés pour ce test bien qu'un résultat négatif soit acceptable dans ces circonstances.

Filtrer l'urine sur un disque de fibre de verre (Whatman GF/B ou équivalent) ou sur un filtre à membrane (dimension des pores 8 µm ou moins) ; si le test n'est pas urgent, l'urine peut également être congelée entre -15 et -25°C pendant la nuit, puis décongelée et centrifugée. Si l'on ne procède pas de cette manière, certains échantillons d'urine peuvent donner des réactions faussement positives avec une dilution allant jusqu'à 1/4.

Si les échantillons de sang ou d'urine sont traités de la manière décrite, aucun autre additif n'est nécessaire pour préserver l'intégrité de l'échantillon.

La présence de facteur rhumatoïde dans le sérum peut donner exceptionnellement des résultats faussement positifs lors de tests ultérieurs des PDF par le Thrombo-Wellcotest et les résultats obtenus chez les patients présentant les symptômes d'une polyarthrite rhumatoïde doivent de ce fait être examinés avec prudence.

Les substances éventuellement présentes dans l'urine, qui peuvent donner une fausse agglutination, peuvent être éliminées par l'une des 2 méthodes décrites ci-dessus.

Il est préférable de conserver les échantillons d'urine entre -15 et -25°C jusqu'au test, l'activité PDF restant intacte pendant de longues périodes. Les échantillons ne doivent pas être recongelés mais conservés entre 2 et 8°C après décongélation.

6. PROCEDURE

MATERIEL FOURNI :

Le Thrombo-Wellcotest permet la réalisation de 20 tests (voir la partie **Composition du coffret**).

PROCEDURE DU TEST

REMARQUE : Tous les tests doivent être effectués à une température ambiante optimale (20 à 25°C).

Procédure qualitative pour les échantillons de sérum

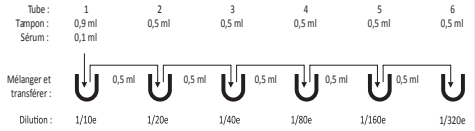
1. Vérifier que l'échantillon ne contient ni cellules ni fibrine. Préparer les dilutions de sérum de la manière suivante :
2. Prendre 2 petits tubes à essai en verre ou en plastique et les étiqueter 1 et 2 respectivement. De même, identifier 2 cercles de la lame.
3. A l'aide du compte-gouttes gradué fourni avec le flacon de tampon salin glycine, ajouter 0,75 ml du tampon dans chaque tube.
4. A l'aide de l'une des pipettes jetables fournies munies de la poire, ajouter 5 gouttes de l'échantillon de sérum dans le tube à essai 1 et 1 goutte dans le tube à essai 2.
5. Mélanger le contenu des 2 tubes qui contiennent maintenant respectivement des dilutions de sérum au 1/5e et 1/20e environ. Rincer la pipette jetable avec un peu d'eau ou de solution saline et s'en servir pour transférer 1 goutte du tube 2 dans le cercle 2 de la lame à réaction et 1 goutte du tube 1 dans le cercle 1 (pipeter les liquides dans cet ordre).
6. Homogénéiser soigneusement la suspension latex en agitant vigoureusement le flacon 3 ou 4 fois puis ajouter 1 goutte de la suspension dans chaque cercle de la lame.
7. Remuer chacun des mélanges sérum/latex, en commençant par celui du cercle 2. En utilisant l'un des bâtonnets jetables, étaler chaque mélange de liquide de manière à remplir la totalité du cercle.
8. Osciller doucement la lame pendant exactement 2 minutes tout en observant s'il se produit une agglutination macroscopique. Comme pour toutes les réactions d'agglutination sur lame, les résultats s'observent mieux à la lumière du jour mais les agglutinations obtenues avec le Thrombo-Wellcotest sont franches et peuvent facilement être reconnaissables dans n'importe quelles conditions normales d'éclairage. Ne pas utiliser de loupe. Déterminer la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après avoir oscillé la lame pendant 2 minutes. Au-delà de ce délai, des résultats erronés peuvent se produire suite au dessèchement du mélange sur la lame.

Procédure qualitative pour les échantillons d'urine

1. Vérifier que l'échantillon ne présente pas de trouble ou de précipité. Préparer la dilution d'urine de la manière suivante :
2. Prendre 1 petit tube à essai en verre ou en plastique ; marquer également 2 cercles des lames 1 et 2 respectivement.
3. A l'aide du compte-gouttes gradué fourni avec le flacon de tampon salin glycine, ajouter 0,75 ml du tampon dans le tube.
4. A l'aide de l'une des pipettes jetables fournies munies de la poire, ajouter 4 gouttes de l'échantillon d'urine au tampon contenu dans le tube à essai puis déposer 1 goutte (d'urine non diluée) dans le cercle 1 de la lame ; rejeter le reste d'urine dans le récipient d'origine.
5. Mélanger le contenu du tube (dilution au 1/5e environ) par aspirations répétées dans le compte-gouttes jetable, puis déposer 1 seule goutte de la dilution dans le cercle 2 de la lame.
6. Homogénéiser soigneusement la suspension latex en agitant vigoureusement le flacon 3 ou 4 fois puis ajouter 1 goutte de la suspension dans chaque cercle de la lame.
7. Remuer chacun des mélanges urine/latex, en commençant par celui du cercle 2. En utilisant l'un des bâtonnets jetables, étaler chaque mélange de liquide de manière à remplir la totalité du cercle.
8. Osciller doucement la lame pendant exactement 2 minutes tout en observant s'il se produit une agglutination macroscopique. Comme pour toutes les réactions d'agglutination sur lame, les résultats s'observent mieux à la lumière du jour mais les agglutinations obtenues avec le Thrombo-Wellcotest sont franches et peuvent facilement être reconnaissables dans n'importe quelles conditions normales d'éclairage. Ne pas utiliser de loupe. Déterminer la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après avoir oscillé la lame pendant 2 minutes. Au-delà de ce délai, des résultats erronés peuvent se produire suite au dessèchement du mélange sur la lame.
Du fait de la différence de viscosité entre le sérum et l'urine, le volume d'1 goutte de sérum est inférieur au volume d'1 goutte d'urine lorsque l'on utilise les pipettes fournies. Les méthodes de préparation des dilutions au 1/5e de sérum et d'urine ne sont donc pas identiques.

Procédure semi-quantitative pour les échantillons de sérum

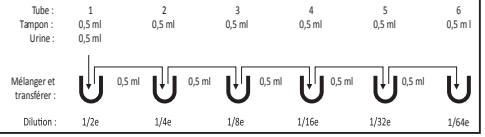
1) Préparer une dilution au 1/10e de l'échantillon de sérum en ajoutant 0,1 ml de sérum à 0,9 ml de tampon salin glycine dans un tube à essai.
2) Préparer une série de dilution de 2 en 2 du 1/10e au 1/320e comme suit :–


Tube : 1 2 3 4 5 6
Tampon : 0,9 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml
Sérum : 0,1 ml
Mélanger et transférer : 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml
Dilution : 1/10e 1/20e 1/40e 1/80e 1/160e 1/320e

3) Transférer 1 goutte de chaque dilution, en commençant par la dilution au 1/320e, dans les différents cercles de la lame de verre.
4) Homogénéiser soigneusement la suspension latex en agitant vigoureusement le flacon 3 ou 4 fois puis ajouter 1 goutte de la suspension dans chaque cercle de la lame de verre.
5) A l'aide de l'un des bâtonnets jetables, remuer chacun des mélanges sérum/latex en commençant par la plus forte dilution.
6) Osciller doucement la lame pendant exactement 2 minutes tout en observant s'il se produit une agglutination macroscopique.
7) Le point de virage est donné par la dernière dilution de sérum donnant une agglutination franche.

Procédure semi-quantitative pour les échantillons d'urine

1) Préparer une dilution au 1/2 de l'échantillon d'urine en ajoutant 0,5 ml d'urine à 0,5 ml de tampon salin glycine dans un tube à essai.
2) Préparer une série de dilution de 2 en 2 du 1/2 au 1/64e comme suit :–


Tube : 1 2 3 4 5 6
Tampon : 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml
Urine : 0,5 ml
Mélanger et transférer : 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml 0,5 ml
Dilution : 1/2e 1/4e 1/8e 1/16e 1/32e 1/64e

3) Transférer 1 goutte de chaque dilution, en commençant par la dilution au 1/64e, dans les différents cercles de la lame de verre à l'aide de la pipette jetable et de la poire.
4) Homogénéiser soigneusement la suspension latex en agitant vigoureusement le flacon 3 ou 4 fois puis ajouter 1 goutte de la suspension dans chaque cercle de la lame de verre.
5) A l'aide de l'un des bâtonnets jetables, remuer chacun des mélanges urine/latex en commençant par la plus forte dilution.
6) Osciller doucement la lame pendant exactement 2 minutes tout en observant s'il se produit une agglutination macroscopique.
7) Le point de virage est donné par la dernière dilution d'urine donnant une agglutination franche.

7. RESULTATS

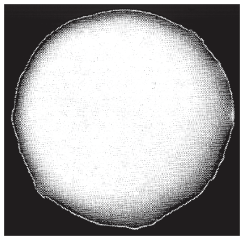
Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en fonction des antécédents médicaux du patient, du tableau clinique et des autres résultats.

LECTURE DES RESULTATS

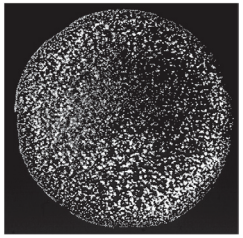
Remarque : Toutes les valeurs numériques indiquées ci-après sont considérées comme approximatives.

Une réaction POSITIVE est indiquée par le développement d'une agglutination dans les 2 minutes qui suivent l'agitation de la suspension latex avec l'échantillon, montrant des agrégats nets des particules de latex (Fig. 2). La vitesse d'apparition et l'intensité de l'agglutination dépendent de la quantité des antigènes présents dans l'échantillon ; l'agglutination peut apparaître en quelques secondes sous forme de gros agrégats ou plus lentement sous forme d'une agglutination plus fine.

Une réaction NEGATIVE est indiquée par l'absence d'agglutination du latex et l'apparence laiteuse de la suspension reste inchangée pendant les 2 minutes du test (Fig. 1). Noter, cependant, que de faibles traces de granulosités peuvent être détectées sur des profils négatifs, selon l'acuité visuelle de l'opérateur.



Réaction type
(Fig. 1)
Image non agglutinée



(Fig. 2)
Image agglutinée

Résultats qualitatifs
Echantillons de sérum :
Comme le Thrombo-Wellcotest est ajusté à une sensibilité de 2 µg/ml, l'observation d'une **agglutination** dans l'un ou l'autre des cercles de la lame indique la présence de PDF à une concentration finale supérieure ou égale à 2 µg/ml dans la dilution de sérum de ce cercle. Comme les dilutions des cercles 1 et 2 sont respectivement au 1/5ème et au 1/20ème environ, un résultat positif dans le cercle 1 indique que les PDF sont présents dans

le sérum d'origine à une concentration supérieure ou égale à 10 µg/ml alors qu'une agglutination dans le cercle 2 indique une concentration d'origine supérieure ou égale à 40 µg/ml.

Remarque : Si l'on observe une agglutination dans le cercle 2, il doit également y en avoir une dans le cercle 1 ; si ce n'est pas le cas, le test n'a pas été effectué correctement et doit être répété.

Echantillons d'urine :
Comme le Thrombo-Wellcotest est ajusté à une sensibilité de 2 µg/ml, l'observation d'une **agglutination** dans l'un ou l'autre des cercles de la lame indique la présence de PDF à une concentration supérieure ou égale à 2 µg/ml dans la dilution de ce cercle. Comme l'urine est testée non diluée dans le cercle 1 et à une dilution au 1/5ème dans le cercle 2, un résultat positif dans le cercle 1 indique que les PDF sont présents à une concentration supérieure ou égale à 2 µg/ml alors qu'une agglutination dans le cercle 2 indique une concentration d'origine supérieure ou égale à 10 µg/ml.

Remarque : Si l'on observe une agglutination dans le cercle 2, il doit également y en avoir une dans le cercle 1 ; si ce n'est pas le cas, le test n'a pas été effectué correctement et doit être répété.

Examples
Echantillon 1 – Sérum
Aspect de la dilution au 1/5ème (cercle 1) – positif.
Aspect de la dilution au 1/20ème (cercle 2) – positif.
La dilution de sérum au 1/20ème contient donc au moins 2 µg/ml de PDF ; la concentration de PDF est par conséquent supérieure au égale à 40 µg/ml.
Echantillon 2 – Urine
Aspect sans dilution (cercle 1) – positif.
Aspect de la dilution au 1/5ème (cercle 2) – négatif.
L'urine non diluée possède une concentration supérieure ou égale à 2 µg/ml de PDF mais moins de 2 µg/ml lorsqu'elle est diluée au 1/5ème. La concentration de PDF dans l'urine est par conséquent comprise entre 2 et 10 µg/ml.

Résults semi-quantitatifs
Calcul des Resultats
Les concentrations de PDF dans le sérum et l'urine sont calculées d'une manière identique en multipliant le point de virage du titrage de la dilution par un facteur de 2 µg/ml.

Par exemple pour le sérum :

1/10e	1/20e	1/40e	1/80e	1/160e	1/320e
+++	++	+	+	–	–

Concentration de PDF : 80 x 2 = 160 µg/ml (approximativement).

CONTROLE QUALITE

Les réactifs ont une bonne stabilité et il n'est normalement pas nécessaire d'inclure des sérums témoin positifs ou négatifs avec chaque série de tests. Cependant, si plusieurs jours ou semaines se sont écoulés depuis le dernier test, il est prudent de vérifier le fonctionnement correct du système en testant la suspension latex avec les sérums témoin fournis avec le kit. Ces sérums ont déjà été dilués et sont prêts à l'emploi : déposer 1 goutte de chaque sérum sur la lame et effectuer le test comme décrit ci-dessus à partir de l'étape 6 de la **procédure qualitative**. Le témoin positif doit présenter une agglutination franche tandis que la suspension latex doit rester inchangée avec le contrôle négatif. Pour plus de précision dans la procédure semi-quantitative, il est recommandé d'incorporer une préparation de référence dans chaque test.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Les concentrations de PDF mesurées à l'aide du Thrombo-Wellcotest sont en bonne corrélation (r = 0,95) avec les résultats obtenus par les dosages immunologiques par inhibition de l'hémagglutination. Les échantillons étudiés comprenaient des plasmas défibrinés,[13] des sérums de patients atteints d'affections rénales, d'affections hépatiques, de carcinomes, d'hyperthyroïdie, d'embolies pulmonaires,[14] d'affections thromboemboliques ou d'infarctus du myocarde[15] et des urines d'individus normaux et de patients ayant récemment subi une transplantation rénale.[12]

L'interprétation des résultats obtenus avec le Thrombo-Wellcotest est par conséquent la même que pour les résultats obtenus par les techniques d'IHA.

Concentrations sériques de PDF
Comme la concentration normale moyenne de PDF sériques est de 4,9 ± 2,8 µg/ml,4 une concentration normale ou légèrement élevée de l'échantillon donnera un résultat négatif (pas d'agglutination) aux 2 dilutions utilisées dans la méthode décrite. Bien qu'une élévation modérée de la concentration de PDF ait été constatée dans un large éventail de conditions cliniques, un test de dépistage des PDF sériques peut avoir une utilité diagnostique dans la coagulation intravasculaire disséminée[8] et les affections vasculaires occlusives aiguës qui sont difficiles à déceler fiablement par le seul examen clinique.[19]

La coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) s'accompagne d'une diminution des taux circulants de fibrinogène et de nombreux facteurs de la coagulation, d'une augmentation du dépôt de fibrine et d'une élévation des concentrations de PDF sériques due à une fibrinolyse secondaire.[20] Une CIVD peut s'observer dans des circonstances variées, par exemple en cas de choc, d'hyperthermie, de dégâts tissulaires étendus, de morsure de serpent, de complications obstétricales ou d'hémolyse intravasculaire aiguë incluant des réactions hémolytiques transfusionnelles.[21] La détermination des PDF circulants parallèlement à d'autres tests de coagulation tels que la numération plaquettaire, le temps de Quick, la taille et la stabilité du caillot, etc. peut aider au diagnostic de la CIVD et à sa différenciation d'un trouble cliniquement semblable mais beaucoup plus rare, la **fibrinogénolyse pathologique**.[22]

L'embolie pulmonaire s'accompagne d'une élévation marquée des PDF qui atteignent des concentrations dépassant 40 µg/ml, bien que ces valeurs soient transitoires et puissent passer inaperçues si l'on ne prélève pas des échantillons de sérum régulièrement en commençant dès le début de l'épisode suspect.[19] En cas de **thrombose veineuse profonde**, on observe normalement des concentrations moyennement élevées comprises entre 10 et 40 µg/ml, des concentrations allant jusqu'à 100 µg/ml ayant été rapportées dans certains cas de coagulation massive. En revanche, des études de cas minutieuses réalisées à l'aide d'une phlébographie et d'une scintigraphie des membres après injection de 131I-fibrinogène ont montré que les patients chez qui les résultats cliniques suggèrent une thrombose veineuse profonde mais non confirmée montrent rarement des concentrations de PDF supérieures à 10 µg/ml.

L'infarctus du myocarde s'accompagne d'une augmentation des concentrations de PDF sériques pour atteindre 40 à 160 µg/ml pendant 1 ou 2 jours après la crise. Après la disparition de ce pic initial, la surveillance continue des concentrations sériques peut fournir des indices précoces d'une extension de l'infarctus ou d'une complication thrombotique secondaire.[7] Il est démontré qu'il existe une relation entre la concentration de PDF sériques à la phase aiguë et la fréquence des complications observées ultérieurement.[23]

Concentrations urinaires de PDF
L'urine contient normalement moins de 0,25 µg/ml de PDF,[9] donnant une réaction négative (pas d'agglutination) dans les 2 cercles par la méthode décrite ci-dessus. Chez les malades atteints d'**affections rénales**, des concentrations élevées peuvent être trouvées et des informations cliniques utiles sur le type, l'activité et la gravité de l'affection[10] peuvent être obtenues par dosage quotidien des PDF sériques[24] ou urinaires. L'efficacité de certains médicaments dans le traitement de la glomérulonéphrite proliférative peut être contrôlée en suivant l'excrétion de PDF pendant la période d'administration.[25] De même, lors des crises de rejet après **transplantation rénale**, la concentration de PDF peut augmenter rapidement jusqu'à 75 µg/ml.[9,15] En surveillant les PDF urinaires, un début de rejet peut être décelé avant qu'il ne le soit par d'autres méthodes[12] ; la concentration urinaire diminue rapidement quand un traitement immunosuppresseur efficace est repris.[11] En cas d'**infection des voies urinaires**, le dosage des PDF urinaires peut être utile dans le diagnostic du siège de l'infection, la concentration étant élevée en cas d'infection urinaire haute alors qu'elle est normale en cas d'infection vésicale.[26]

8. LIMITES DE LA MÉTHODE

Avec des échantillons de sérum, la présence de facteur rhumatoïde peut interférer avec le test et donner des résultats faussement élevés. Si les symptômes d'un patient suggèrent qu'il est atteint d'une polyarthrite rhumatoïde, il est conseillé de pratiquer un test de dépistage du facteur rhumatoïde parallèlement au Thrombo-Wellcotest. Si ce test donne un résultat négatif, on peut considérer la concentration de PDF comme valide ; en revanche, si les 2 tests sont positifs, la concentration de PDF doit être interprétée avec prudence.

L'interférence du facteur rhumatoïde peut être éliminée en réduisant le sérum avec du dithiothréitol ou 2-mercaptoéthanol.[18] Certaines substances pouvant être présentes dans l'urine peuvent provoquer une agglutination non spécifique. Ces substances interférentes peuvent être éliminées selon la méthode décrite au paragraphe **Prélèvement et conservation des échantillons - Echantillons d'urine**.

9. RESULTATS ATTENDUS

Le Thrombo-Wellcotest s'agglutine en présence de PDF à une concentration supérieure ou égale à 2 µg/ml.

10. CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES

Le Thrombo-Wellcotest permet de déceler le fibrinogène et tous les antigènes apparentés (monomères de fibrine, fragments X, Y, D et E) dans le plasma, le sérum et l'urine humaine. La sensibilité du test est standardisée à 2 µg/ml de PDF, mais la réactivité vis à vis de la molécule entière de fibrinogène peut varier d'un lot à l'autre. Si le Thrombo-Wellcotest est utilisé pour d'autres finalités que le dosage des PDF dans le sérum ou l'urine selon les procédures décrites dans la notice du dosage, il est recommandé d'inclure, dans chaque série de tests, une préparation standard du laboratoire avec le matériel approprié.

11. BIBLIOGRAPHIE

1. **Ferri, R.G. and Ferreira, H.C.** (1963). Immunochemical studies of the circulating products of fibrinogenolysis in certain pathological conditions. *Vox Sang.* (Basel), **8,** 356.
2. **Merskey, C., Kleiner, G.J.,** *et al* (1966). Quantitative estimation of split products of fibrinogen in human serum, relation to diagnosis and treatment. *Blood,* **28,** 1.
3. **Murkami, M.** (1965). An Immunological method for demonstrating fibrin or fibrinogen degradation products in the circulating blood. *Acta haemat. Jap.,* **28,** 341.
4. **Das, P.C., Allan, A.G.E.,** et al (1967). Fibrin degradation products in sera of normal subjects. *Brit. Med. J.,* **4,** 718.
5. **Cash, J.D.** (1966). Effect of moderate exercise on the fibrinolytic system in normal young men and women. *Brit. Med. J.,* **2,** 502.
6. **Chakrabarti, R., Hocking, E.D.,** et al (1969). Reaction pattern to three stresses-electoplexy, surgery, and myocardial infarction-of fibrinolysis and plasma fibrinogen. *J. Clin. Path.,* **22,** 659.
7. **Cash, J.D., Woodfield, D.G.,** et al (1969). Diagnosis of suspected or occult pulmonary embolus. *Brit. Med. J.,* **2,** 576.
8. **Ellman, L., Carvalho, A.**, et al (1973). The Thrombo-wellcotest as a screening test for disseminated intravascular coagulation. *New Engl. J. med.,* **288,** 633.
9. **Clarkson, A.R., Morton, J.B.,** et al (1970). Urinary fibrin/fibrinogen degradation products after renal homotransplantation. *Lancet,* **2,** 1220.
10. **Clarkson, A.R., MacDonald, M.K.,** et al (1971). Serum and urinary fibrin/fibrinogen degradation products in glomerulonephritis. *Brit. Med. J.,* **3,** 447.
11. **Cash, J.D. and Clarkson, A.R.** (1971). 45. Serum and urinary fibrin/fibrinogen degradation products in renal disease. *Scand. J haemat., Suppl.* **13,** 331.
12. **Hulme, B. and Pitcher, P.M.** (1973). Rapid latex-screening test for the detection of fibrin-fibrinogen degradation products in urine after renal transplantation. *Lancet,* **1,** 6.
13. **Arocha-Pinango, C.L.** (1972). A comparison of the TRCII and latex-particle tests for the titration of FR-antigen. *J. Clin. Path.* **25,** 757.
14. **Garvey, M.B. and Black, J.M.** (1972). The detection of fibrinogen/fibrin degradation products by means of a new antibody-coated latex particle. *J. Clin. Path.,* **25,** 680.
15. **Pitcher, P.M.** (1972). The detection of fibrinogen degradation products (FDP) in serum and urine. *Canad. J. Med. Tech.,* **34,** 166.
16. **Blombäck, B., Blombäck, M.,** et al (1957). Coagulation studies on "Reptilase", an extract of the venom from Bothrops jararaca. *Throm. et diath. haem,* **1,** 76.
17. **Latallo, Z.S. and Teisseyre, E.** (1971). Evaluation of Reptilase R and thrombin clotting time in the presence of fibrinogen degradation products and heparin. *Scand. J. Haemat., Suppl.* **13,** 261.
18. **Rutstein, J.E., Holahan, J.R.,** et al (1978). Rhematoid factor interference with the latex agglutination test for fibrin degradation products. *J. Lab. Clin. Med.,* **92,** 529.
19. **Ruckley, C.V., Das, P.C.,** et al (1970). Serum fibrin/fibrinogen degradation products associated with postoperative pulmonary embolus and venous thrombosis. *Brit. Med. J.,* **4,** 395.
20. **Merskey, C., Johnson, A.J.,** et al (1967). The defibrination syndrome: Clinical features and laboratory diagnosis. *Brit. J. Haemat.,* **13,** 528.
21. **Sack, E.S. and Nefa, O.M.** (1970). Fibrinogen and fibrin degradation products in Hemolytic transfusion reactions. *Transfusion,* **10,** 317.
22. **Marder, V.J.** (1971). Pathophysiology and therapy of disseminated intravascular coagulation. *Rational Drug Therapy,* **5/12,** 1.
23. **Baele, G., Mussche, M.,** et al (1972). Serum fibrin/fibrinogen degradation products in acute myocardial infarction. *Lancet,* **1,** 689.
24. **Briggs, J.D., Prentice, C.R.M.,** et al (1972). Serum and urine fibrinogen-fibrin-related antigen (F.R.-antigen) levels in renal disease. *Brit. Med. J.* **4,** 82.

25. **Clarkson, A.R., MacDonald, M.K.,** et al (1972). Modification by drugs of urinary fibrin/fibrinogen degradation products in glomerulonephritis. *Brit. Med. J.,* **3,** 255.

26. **Whitworth, J.A., Fairley, K.F.,** et al (1973). Urinary fibrin-degradation products and the site of urinary infection. *Lancet,* **1,** 234.

12. EMBALLAGE

REF HA13/R30852601.....20 tests

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température (température de conservation)
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	A utiliser avant (date de péremption)
	Avertissement, consulter la documentation jointe
	Ne pas réutiliser
STERILE R	Méthode de stérilisation par irradiation
	Fabricant

CE

Vacutainer® est une marque commerciale de Becton Dickinson.
*marque commerciale.

IFU X7824 Révisé Janvier 2013

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.